

学位授与番号	乙第 1608 号
学位授与年月日	平成 17 年 6 月 15 日
氏 名	小林 歩
学位論文題目	Hepatocyte growth factor regulates the proliferation and differentiation of cartilage in developing forelimb of mouse embryos in vitro (マウス胎仔の前肢発生において肝細胞増殖因子は軟骨細胞の増殖と分化を調節する)
論文審査委員	主 査 教 授 大島 徹 副 査 教 授 中沼 安二 金子 周一

内容の要旨及び審査の結果の要旨

本研究では、無血清培地を用いたマウス胎仔前肢芽の器官培養法を用いて、肝細胞増殖因子 (HGF) の軟骨形成及び内軟骨性骨化における役割を解析した。

まず、HGF 並びに HGF の受容体である c - Met の免疫活性を調べるため、HGF と c - Met の抗体を用いて胎齢 14 日のマウス胎仔前肢軟骨について免疫組織化学的に検討したところ、胎齢 14 日のマウス胎仔前肢において、HGF の免疫活性は増殖軟骨細胞と前期肥大軟骨細胞で極めて強く認められ、一方、静止軟骨細胞や後期肥大軟骨細胞では弱い免疫活性を認めた。また c - Met については、静止軟骨細胞、増殖軟骨細胞及び前期肥大軟骨細胞で免疫活性を認めたが、HGF と異なり、増殖軟骨細胞や前期肥大細胞では弱かった。次に、胎齢 10 日の DDY マウス胎仔から左右の前肢芽を摘出し、BGJb 培地、5%CO₂ の条件下で 8 日間培養した。培地中に添加した物質により、無添加の対照群、100ng/ml 組換えヒト HGF 添加群、25 μ M HGF アンチセンス-オリゴデオキシリボヌクレオチド(ODN)添加群、25 μ M HGF 対照 ODN 添加群、5ng/ml NK4 (HGF のアンタゴニスト) 添加群の各実験群に分けた。その結果、外因性 HGF を加えた無血清培地で培養すると、前肢芽・軟骨性原基における軟骨細胞の増殖活性が増強され、細胞分化の指標となる軟骨細胞の肥大化やそれに伴う X 型コラーゲン産生は抑制された。これに対して HGF アンチセンス ODN 添加群や NK4 添加群では、軟骨細胞の増殖が抑制され、軟骨細胞の肥大化や X 型コラーゲンの産生が促進された。即ち、HGF アンチセンス ODN や NK4 添加により内因性 HGF の作用を抑制することで、軟骨細胞の増殖抑制と分化(肥大化)の促進がおこり、外部から組換え HGF を加えて内因性 HGF の働きを増強すると、逆に軟骨細胞の増殖促進と分化(肥大化)の抑制がおこることが明らかとなった。

以上の実験結果から、肝細胞増殖因子 HGF は軟骨細胞の増殖と分化のバランスを制御することによって、内軟骨性骨化の進行を調節する働きがあることが示唆された。

本研究は、内軟骨性骨化における肝臓細胞増殖因子 HGF の生理学的重要性を実験的に明らかにしたものであり、整形外科学的发展に寄与し、学位授与に値する論文であると評価された。